



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Correlación de las mitoquinas con variables clínicas de la EPOC.

Correlation of mitokines with clinical variables of COPD.

Autor: Daymara Bouclé Tirador

Director/es: Carlos Amado Diago

María Teresa García Unzueta

Santander, Junio 2021

ÍNDICE

1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>INTRODUCCIÓN</u>	3
2.1. Definición	3
2.2. Epidemiología	3
2.3. Etiología	3
2.4. Sintomatología	4
2.4.1. Agudizaciones de la EPOC	4
2.4.2. Importancia de las agudizaciones en la EPOC	5
2.4.3. Importancia de los ingresos en la EPOC	6
2.5. Diagnóstico	6
2.5.1. Marcadores pronóstico	7
2.6. Fenotipos clínicos	8
2.7. Comorbilidades en la EPOC	9
2.8. Actividad Física y Nutrición	10
2.9. Mitoquinas	11
3. <u>HIPÓTESIS</u>	12
4. <u>OBJETIVOS</u>	12
5. <u>METODOLOGÍA</u>	13
5.1. Diseño del estudio	13
5.2. Selección de pacientes	13
5.3. Recogida de datos	14
5.4. Determinaciones analíticas	15
5.5. Análisis estadístico de los datos	16

6. <u>RESULTADOS</u>	17
6.1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.	17
6.2. Descripción de los niveles de mitoquinas en los grupos del estudio	17
6.3. Correlación de los niveles de las mitoquinas con distintas variables clínicas de la EPOC	19
6.4. Diferencias entre pacientes con EPOC con distintas características clínicas categorizados por grado de obstrucción y por grupo clínico GOLD.	20
6.5. Utilidad diagnóstica de las mitoquinas.	22
7. <u>DISCUSIÓN</u>	24
7.1. Principales hallazgos	24
7.2. Comparación con otros estudios	24
7.3. Fortalezas y Limitaciones	25
8. <u>CONCLUSIÓN</u>	26
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	27
10. <u>AGRADECIMIENTOS</u>	32

ÍNDICE DE ABREVIATURAS:

Aa: Aminoácido.

ACO: Asthma-COPD Overlap (Solapamiento de ASMA y EPOC).

ATP: Adenosine triphosphate (Trifosfato de adenosina).

AUC: Area Under the Curve (Área bajo la curva)

BODE: Body mass index, airflow Obstruction, Dysnea and Exercise capacity index.

BODEX: Body mass index, airflow Obstruction, Dysnea and Exacerbations.

CAT: COPD Assessment Test.

COR: Característica Operativa del Receptor.

DAMPs: Damage associated molecular patterns.

EPISCAN-II: Epidemiologic Study of COPD in Spain.

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

FEV₁: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo.

FFMI: índice de masa corporal libre de grasa.

FGF21: Factor de crecimiento fibroblástico 21.

FVC: Capacidad vital forzada.

GDF15: Factor de crecimiento y desarrollo 15.

GesEPOC: Guía española de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.

HN: Humanina.

HUMV: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1.

IGFBP3: Proteína transportadora 3 del factor de crecimiento similar a la insulina.

IMC: Índice de masa corporal.

IMM: Índice de masa magra.

IPA: Índice paquetes-año.

mMRC: modified Medical Research Council.

MOTS-c: Mitochondrial ORF of the Twelve S-c.

mtDNA: Ácido desoxirribonucleico mitocondrial.

nDNA: Ácido desoxirribonucleico del núcleo.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

TAC: Tomografía axial computarizada.

TM6M: test de marcha de 6 minutos.

1. RESUMEN

Introducción: La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una de las enfermedades más prevalentes en nuestro medio. Las exacerbaciones de esta enfermedad presentan una importante morbi-mortalidad. Hasta el momento, no existe ningún biomarcador analítico que permita diagnosticar una agudización de la EPOC.

Objetivo: Estudiar las alteraciones que se producen en las mitoquinas en una cohorte que incluye EPOC estables, EPOC agudizados y un grupo control de fumadores sanos. Evaluar la posible utilidad diagnóstica de las mitoquinas en pacientes agudizados y la correlación de las mitoquinas con distintas variables clínicas de la EPOC.

Metodología: Estudio transversal en el que se midieron los niveles séricos de FGF-21, GDF-15, MOTS-c, Humanina y variables clínicas relevantes de la EPOC en 166 participantes (40 controles, 95 EPOC estable y 31 agudizados).

Resultados: Los niveles de FGF-21 (pg/ml), Humanina (pg/ml) y MOTS-c (ng/ml) fueron menores en los pacientes agudizados que en los EPOC estables ($p=0,01$; $p=0,002$ y $p<0,001$ respectivamente). Mientras que los niveles séricos de GDF-15 (pg/ml) estaban más altos en los pacientes agudizados que en los pacientes con EPOC estable ($p<0,001$).

Al estudiar las correlaciones entre las mitoquinas y distintas variables clínicas de la EPOC comprobamos que los niveles de FGF-21 (pg/ml) correlacionaban negativamente con la puntuación en el CAT ($r=-0,240$ $p=0,031$) y positivamente con FEV1 medido en porcentaje ($r=0,246$ $p=0,021$) y en mililitros ($r=0,253$ $p=0,017$). Por su parte, GDF-15 (pg/ml) correlacionó negativamente con el T6MM ($r=-0,363$ $p=0,001$) y positivamente con la edad ($r=0,464$ $p=0,000$).

También observamos la potencial utilidad diagnóstica de los niveles de GDF-15 (pg/ml) (AUC=0,707) y de MOTS-c (ng/ml) (AUC=0,806) para diagnosticar una agudización.

Conclusión: Los niveles de FGF-21, GDF15, MOTS-c y Humanina están alterados durante las agudizaciones de la EPOC. Algunas de estas mitoquinas correlacionan con ciertas variables clínicas. GDF-15 y MOTS-c podrían ser útiles para diagnosticar las agudizaciones de la EPOC.

ABSTRACT:

Introduction: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is one of the most prevalent diseases in our environment. Exacerbations of this disease present significant morbidity and mortality. To date, there is no analytical biomarker that allows the diagnosis of an exacerbation of COPD

Objective: To study the alterations in mitokines in a cohort that includes stable COPD, exacerbated COPD and a control group of healthy smokers. To evaluate the possible diagnostic utility of mitokines in exacerbated patients and the correlation of mitokines with different clinical variables of COPD.

Methods: Cross-sectional study in which serum levels of FGF-21, GDF-15, MOTS-c, Humanin and relevant clinical variables of COPD were measured in 166 subjects (40 controls, 95 stable COPD and 31 exacerbated).

Results: The levels of FGF-21 (pg/ml), Humanin (pg/ml) and MOTS-c (ng/ml) were lower in exacerbated patients than in stable COPD ($p=0,01$; $p=0,002$ and $p<0,001$ respectively). While the serum levels of GDF-15 (pg/ml) were higher in exacerbated patients than in patients with stable COPD ($p<0,001$).

When studying the correlations between mitokines and different clinical variables of COPD, we verified that the levels of FGF-21 (pg/ml) correlated negatively with the CAT score ($r=-0,240$ $p=0,031$) and positively with FEV1 measured in percentage ($r=0,246$ $p=0,021$) and in milliliters ($r=0,253$ $p=0,017$). On the other hand, GDF-15 (pg/ml) correlated negatively with T6MM ($r=-0,363$ $p=0,001$) and positively with age ($r=0,464$ $p=0,000$).

We also observed the potential diagnostic utility of GDF-15 (pg/ml) (AUC=0,707) and MOTS-c (ng/ml) (AUC=0,806) levels to diagnose exacerbation.

Conclusion: The levels of FGF-21, GDF15, MOTS-c and Humanin are altered during exacerbations of COPD. Some of these mitokines correlate with certain clinical variables. GDF-15 and MOTS-c could be useful in to diagnose exacerbations of COPD.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Definición

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una enfermedad heterogénea caracterizada por una inflamación crónica que reduce el calibre de las vías aéreas pequeñas y destruye el parénquima pulmonar disminuyendo la habilidad de la vía aérea para mantenerse abierta durante la espiración. Esto origina una obstrucción crónica no reversible al flujo aéreo y asocia síntomas respiratorios (disnea, tos y/o expectoración) que pueden preceder al desarrollo de la obstrucción. ^{1, 2}

2.2. Epidemiología

Constituye un problema de salud pública de alta morbilidad e infradiagnóstico. La prevalencia de la EPOC está estrechamente relacionada con la prevalencia del tabaco, especialmente en los países desarrollados. En los próximos años se espera que la prevalencia y el coste sanitario de esta patología aumente debido al mantenimiento de la exposición a factores de riesgo y al envejecimiento de la población mundial. ¹

Existe evidencia de una mayor prevalencia de EPOC en fumadores y exfumadores que en no fumadores, en mayores de 40 años y en hombres más que en mujeres. ³

Según el estudio EPISCAN-II (Epidemiologic Study of COPD in Spain) la prevalencia de esta enfermedad ha aumentado hasta el 12% en los últimos 10 años. También en este estudio se ha observado un importante infradiagnóstico en mujeres. ⁴

2.3. Etiología

El principal agente etiológico es el consumo de tabaco. No obstante, existen otros agentes que pueden intervenir en el desarrollo de la enfermedad como la exposición al humo de la biomasa, particularmente relevante en países de bajos ingresos. ⁵

- **Consumo de tabaco**

La asociación causal entre el humo del tabaco y la EPOC está muy descrita a través de numerosos estudios científicos como: "The natural history of chronic airflow obstruction" ⁶ o "The natural history of chronic airflow obstruction: An analysis of the Framingham Offspring Cohort" ⁷. Algunos autores lo consideran el único agente causal en el primer mundo. ⁸

- **Tabaquismo pasivo**

El "humo ambiental del tabaco" ha demostrado estar implicado en la patogenia de la EPOC y supone un mayor riesgo de desarrollar esta patología en pacientes no fumadores. ⁹

- **Quema de combustible biomasa**

La exposición al humo de la biomasa está considerada como una de las principales causas de EPOC, especialmente en no fumadores. ¹⁰ Es importante interrogar los

antecedentes de exposición al humo de carbón o leña, sobre todo en no fumadores o con escasa exposición al tabaco. En un estudio reciente realizado en Galicia se observó que la exposición al humo de biomasa era el factor etiológico del 24% de los pacientes con EPOC.¹¹ Asimismo, las mujeres expuestas durante la infancia o juventud al humo de leña y carbón han mostrado un aumento del riesgo de ingreso por la EPOC.¹²

2.4. Sintomatología

Los síntomas más frecuentes son: disnea, tos y/o expectoración. La posibilidad de tener EPOC debe considerarse en todo paciente que presente estos síntomas y tenga antecedente de exposición a factores de riesgo.

Disnea: característicamente progresiva y persistente que empeora con el ejercicio. Es un síntoma cardinal de la EPOC que acarrea bastante discapacidad y ansiedad con la enfermedad.¹³

Tos crónica: frecuentemente es el primer síntoma de la EPOC, aunque puede existir una limitación significativa al flujo aéreo sin que esté presente. La tos puede ser o no productiva. Al principio suele tener un carácter intermitente y posteriormente aparece durante todo el día, todos los días.¹

Expectoración: es habitual que los pacientes con EPOC expectoren al toser. Algunos cumplen criterios de bronquitis crónica¹⁴ (expectoración la mayoría de los días de la semana durante 3 o más meses consecutivos por año al menos durante 2 años consecutivos sin relacionarse con otra enfermedad pulmonar o cardíaca). No obstante, en esta enfermedad la producción de esputo es variable con periodos de exacerbaciones intercalando periodos de remisión. La aparición de un esputo purulento traduce un aumento de mediadores inflamatorios¹⁵ que podrían significar el inicio de una exacerbación bacteriana.¹⁶

Sibilancias y opresión en el pecho: son síntomas que varían a lo largo del día y entre un día y otro. Las sibilancias se pueden oír a nivel laríngeo o pueden ser generalizadas en la auscultación pulmonar. Por su parte la opresión en el pecho suele seguir a un esfuerzo, está mal localizada, es de carácter muscular y puede ser consecuencia de una contracción isométrica de los músculos intercostales.

Síntomas adicionales en la enfermedad grave: en pacientes con EPOC severo es común encontrar fatiga, pérdida de peso, pérdida de masa muscular y anorexia. Estos síntomas tienen importancia en el pronóstico de la enfermedad además de ser datos de alarma para sospechar otra patología como la tuberculosis o el cáncer de pulmón.^{17,18} Durante la anamnesis es aconsejable valorar signos de depresión y/o ansiedad en estos pacientes ya que se ha relacionado con peor estado de salud, aumento del riesgo de exacerbaciones y de ingresos hospitalarios.¹⁹

2.4.1. Agudizaciones de la EPOC

La agudización de la EPOC se define como un episodio agudo de inestabilidad clínica donde existe un empeoramiento mantenido de los síntomas respiratorios que

sobrepasa los cambios diarios que sufre el paciente en su situación estable y que requiere la modificación del tratamiento habitual.²⁰

Existe una gran variabilidad interpersonal, habrá pacientes que apenas tengan agudizaciones y otros que agudicen muy a menudo. De media, los pacientes con EPOC presentan 1-4 exacerbaciones/año.²¹

Las infecciones bacterianas, víricas o la combinación de estas, son la etiología principal de las agudizaciones de la EPOC.²² El 50% son bacterianas por *Haemophilus Influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella Catharralis*²³. El 30% son infecciones virales, principalmente por *Rhinovirus*. El 20% se produce por bacterias atípicas (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Legionella pneumophila*)²⁴.

El diagnóstico de las agudizaciones es clínico salvo casos graves donde estaría indicado el análisis de esputo. Los criterios de Anthonisen se utilizan como aproximación de las agudizaciones que precisan antibioterapia. De este modo, deberá emplearse antibioterapia cuando se cumplan dos de los siguientes criterios: aumento de disnea, esputo purulento y aumento del volumen del esputo; siendo la purulencia del esputo el mejor predictor de infección bacteriana.²⁵

El tratamiento será ambulatorio en el 80% de los casos.¹ En todos los pacientes se emplearán broncodilatadores asociados a otras terapias (antibioterapia, corticoides sistémicos, oxigenoterapia, ventilación asistida, rehabilitación pulmonar...etc.) según las características propias de cada paciente.²⁶

2.4.2. Importancia de las agudizaciones en la EPOC

Los pacientes que agudizan suelen tener un deterioro más rápido de la función pulmonar y una mayor mortalidad.¹ Las agudizaciones tienen repercusión a largo plazo en varios aspectos del paciente:

En los síntomas respiratorios: Se ha visto que en pacientes agudizadores existe un empeoramiento de la disnea basal según la escala mMRC y de la actividad física según el test de marcha de 6 minutos. Este deterioro puede revertir parcialmente con rehabilitación pulmonar.^{27, 28}

En la función pulmonar: Tanto en el episodio agudo como a largo plazo puede objetivarse una caída de la FEV1, consecuencia del deterioro de la obstrucción producida por el cuadro inflamatorio de la agudización.²⁹ Asimismo, los pacientes más agudizadores presentan mayor colonización bacteriana de la vía aérea suponiendo mayor inflamación crónica y, por consiguiente, mayor descenso de FEV1.³⁰

En la morbilidad: Las agudizaciones son la principal causa de mortalidad en los pacientes con EPOC grave o muy grave.³¹ Según el índice pronóstico BODEx, los pacientes con bajo IMC, mayor disnea, menor FEV1 y 2 o más agudizaciones presentan mayor mortalidad y debería valorarse incluirlos en programas de trasplante pulmonar.³²

En la calidad de vida: La confluencia de la limitación de la actividad física, la disnea, la tos y la propensión a la ansiedad y/o depresión influye negativamente en la calidad de vida del paciente.³³

Económica: El gasto económico es directamente proporcional a la gravedad de la enfermedad, la edad y el nivel asistencial.³⁴ Por un lado está el gasto directo del consumo de recursos sanitarios (medicación, oxigenoterapia, ingreso...etc.) y por otro el indirecto derivado de la abstinencia laboral, la pérdida de productividad y el coste de cuidadores.³⁵

2.4.3. Importancia de los ingresos en la EPOC.

Ante agudizaciones graves de la EPOC puede ser necesario el ingreso hospitalario. Las guías internacionales establecen una serie de factores a tener en cuenta a la hora de decidir ingresar o no a un paciente con una agudización de la EPOC ¹:

- Síntomas graves como el empeoramiento súbito de la disnea en reposo, frecuencia respiratoria elevada, disminución de la saturación de oxígeno, confusión, somnolencia.
- Insuficiencia respiratoria aguda.
- Aparición de nuevos signos físicos (por ejemplo, cianosis, edema periférico).
- Falta de respuesta de una exacerbación al tratamiento médico inicial.
- Presencia de comorbilidades graves (por ejemplo, insuficiencia cardíaca, arritmias de nueva aparición, etc.).
- Apoyo domiciliario insuficiente.

La hospitalización de estos pacientes implica mayor tasa de mortalidad por el deterioro de todas las variables clínicas y pronósticas de la EPOC (necesidad de oxigenoterapia domiciliaria, peor función pulmonar, menor capacidad para el ejercicio, agravamiento de la disnea, peor calidad de vida...etc.). ^{36,29}

A pesar de tratarse de unos eventos clave en la EPOC, no existe ningún biomarcador bioquímico que permita establecer un diagnóstico definitivo de agudización de EPOC o que permita clasificar la gravedad de las agudizaciones de la EPOC.

2.5. Diagnóstico

El diagnóstico de sospecha se da en un paciente adulto fumador o exfumador con un Índice paquetes-año (IPA) mayor de 10. Para confirmar la limitación persistente al flujo aéreo es preciso realizar una espirometría que objetive un cociente entre el volumen espiratorio máximo en el primer segundo (FEV1) y la capacidad vital forzada (FVC) postbroncodilatación menor de 0,70.³⁷

La evaluación de la EPOC debe tener en cuenta 4 aspectos:

- La presencia e intensidad de la obstrucción en la espirometría.
- La naturaleza y magnitud de los síntomas.
- Los antecedentes y riesgos futuros de exacerbaciones.

- La presencia de comorbilidades.

La gravedad de la obstrucción del flujo aéreo se puede clasificar según el valor del FEV₁ postbroncodilatador en: GOLD 1 FEV₁ ≥ 80%, GOLD 2 FEV₁ 50-79%, GOLD 3 FEV₁ 30-49% y GOLD 4 FEV₁ < 30%.¹

Por su parte, la evaluación de los síntomas se realiza en la práctica clínica usando el COPD Assessment Test (CAT) y el grado de disnea según la escala del modified Medical Research Council (mMRC). Según estos parámetros dividimos a los pacientes en poco sintomáticos y muy sintomáticos. Si a esto le añadimos la historia de exacerbaciones (2 o más agudizaciones que precisen antibioterapia o corticoterapia en el último año o 1 hospitalización por agudización en le último año) clasificaríamos a los pacientes en 4 categorías posibles como se ilustra en la **Figura 1**.¹

GRADO FEV ₁ (% del predicho)		Antecedentes de exacerbación moderada o grave	
GOLD 1	≥ 80	≥ 2 ó ≥ 1 causante de hospitalización	C
GOLD 2	50-79		D
GOLD 3	30-49	0 ó 1 (no motiva ingreso hospitalario)	B
GOLD 4	< 30		A
		<div> <div>mMRC 0-1 CAT < 10</div> <div>mMRC ≥ 2 CAT ≥ 10</div> </div>	
		Síntomas	

Figura 1. Clasificación de pacientes según grado de obstrucción, clínica y exacerbaciones.

2.5.1. Marcadores pronóstico

Existen muchas variables que ayudan a distinguir a los pacientes con mayor riesgo de mortalidad. Entre estas variables destaca el IMC, la FEV₁, la disnea según la escala mMRC y la distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos. Todos estos datos están recogidos en el índice BODE propuesto por Celli et al.³⁸ Con el aumento de un punto del índice BODE existe un aumento del 34% en la mortalidad por todas las causas y del 62% en la mortalidad de causa respiratoria.³⁸

En la **Tabla 1**. podemos ver que la ponderación del índice BODE va de 0 a 10 puntos, divididos en 4 cuartiles:

- Cuartil 1: 0-2 puntos.
- Cuartil 2: 3-4 puntos.
- Cuartil 3: 5-6 puntos.
- Cuartil 4: 7-10 puntos.

Tabla 1. Índice BODE

Marcadores		Puntuación			
		0	1	2	3
B	IMC (kg/m ²)	> 21	≤ 21	-	-
O	FEV ₁ (%)	≥ 65	50-64	36-49	≤ 35
D	Disnea (mMRC)	0-1	2	3	4
E	6MM (m)	≥350	250-349	150-249	≤ 149

6MM: distancia recorrida en la prueba de los 6 minutos de marca; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; IMC: índice de masa corporal; mMRC: escala modificada del Medical Research Council.

Dado que la realización del test de marcha de 6 minutos requiere un tiempo disponible que muchas veces no es realista en la práctica clínica, se ha propuesto la sustitución de esta prueba por el registro de las exacerbaciones graves (Ex) denominando esta alternativa como índice BODEx.³⁹ Ambos índices tienen una alta correlación en la predicción de mortalidad. En la **Tabla 2.** vemos que el BODEx va de 0 a 9 puntos y también se divide en 4 cuartiles:

- Cuartil 1: 0-2 puntos.
- Cuartil 2: 3-4 puntos.
- Cuartil 3: 5-6 puntos.
- Cuartil 4: 7-9 puntos.

Tabla 2. Índice BODEx

Marcadores		Puntuación			
		0	1	2	3
B	IMC (kg/m ²)	> 21	≤ 21	-	-
O	FEV ₁ (%)	≥ 65	50-64	36-49	≤ 35
D	Disnea (mMRC)	0-1	2	3	4
Ex	Exacerbaciones*	0	1-2	≥ 3	-

FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; IMC: índice de masa corporal; mMRC: escala modificada del Medical Research Council.

*Se incluyen únicamente visitas a urgencias hospitalarias o ingresos.

2.6. Fenotipos clínicos

Al tratarse de una enfermedad tan heterogénea se utilizan particularidades (síntomas, agudizaciones, respuesta al tratamiento, velocidad de progresión...etc.) de la enfermedad que por sí solas, o combinadas son capaces de clasificar a los pacientes en subgrupos con valor pronóstico.⁴⁰ Según la guía GesEPOC se pueden diferenciar cuatro fenotipos que determinan un enfoque terapéutico personalizado:

- **No agudizador:**

El paciente no agudizador es el que presenta como máximo una agudización moderada el año previo. Se caracterizan por tener menor riesgo de deterioro de la calidad de vida,

de pérdida de función pulmonar y de mortalidad en comparación con un paciente agudizador.²

- **EPOC-Asma (ACO):**

La EPOC y el asma son enfermedades respiratorias que en la práctica clínica se pueden presentar con características comunes. El ACO se define como la limitación crónica persistente al flujo aéreo en un paciente fumador o exfumador que presenta características propias del asma.²

- **Agudizador:**

Paciente con EPOC que en el año previo ha tenido dos o más agudizaciones que hayan necesitado tratamiento ambulatorio con antibióticos y/o corticoides sistémicos, o una agudización grave que precisara ingreso hospitalario³⁵. Los pacientes con este fenotipo tienen mayor riesgo de hospitalización y aquellos con agudizaciones graves, tienen mayor riesgo de mortalidad.²

Agudizador con enfisema:

El enfisema es el agrandamiento de los espacios aéreos que están distales al bronquiolo terminal. Es un concepto anatómico que se acompaña de destrucción de la pared alveolar.²

Por su parte, el fenotipo enfisema engloba a pacientes con EPOC que tienen diagnóstico clínico, radiológico y funcional de enfisema y muestran síntomas como disnea e intolerancia al ejercicio.² Estos pacientes se caracterizan por tener datos de hiperinsuflación, enfisema manifiesto en TAC y/o disminución de la capacidad de difusión de monóxido de carbono.⁴¹

El fenotipo enfisema suele tener menos agudizaciones que el fenotipo bronquitis crónica. No obstante, el enfisema grave se asocia a mayor descenso anual del FEV₁ y a un mal pronóstico.⁴²

Agudizador con bronquitis crónica:

Paciente agudizador que tiene tos con expectoración al menos durante tres meses al año en dos años consecutivos. En estos casos debe realizarse una TAC para valorar la posible existencia de bronquiectasias y, cuando esté en fase estable, cultivos de esputo.
43, 44

2.7. Comorbilidades en la EPOC

Las comorbilidades son más frecuentes en los pacientes con EPOC que en la población general. La más relevante de estas es la patología cardiovascular (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o ictus), aunque también hay mayor prevalencia de hipertensión, diabetes mellitus, insuficiencia renal, osteoporosis, enfermedades psiquiátricas, deterioro cognitivo, anemia o neoplasias (en especial el cáncer de pulmón). La presencia de alguna de estas comorbilidades empeora el pronóstico de la EPOC.⁴⁵

Las enfermedades cardiovasculares junto con las neoplasias son las comorbilidades de mayor mortalidad en estos pacientes. Se estima que el riesgo ajustado de presentar cardiopatía isquémica en pacientes con EPOC es entre dos y cinco veces superior que en pacientes sin EPOC, independientemente de otros factores de riesgo vascular como el tabaco.⁴⁶ Asimismo, en las semanas posteriores a una exacerbación de la EPOC existe un aumento del riesgo de evento isquémico debido al aumento de parámetros inflamatorios, de la rigidez arterial y de la agregación plaquetaria.⁴⁷ El pronóstico de la EPOC empeora si existe un aumento de la concentración plasmática de marcadores de lesión miocárdica en pacientes sin cardiopatía isquémica conocida.⁴⁸

Referente a las neoplasias, los pacientes con EPOC tienen de dos a cuatro veces más riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, tras ajustar por variables de confusión, incluido el historial tabáquico. Este riesgo aumenta en pacientes con enfisema, mayores de 60 años, con un índice paquetes-años mayor de 60 y un índice de masa corporal menor de 25kg/m².⁴⁹

2.8. Actividad Física y Nutrición

Actividad Física

Según la GOLD, la rehabilitación pulmonar debe incluir un entrenamiento estructurado y supervisado, dejar de fumar, asesoramiento nutricional y educación para la autogestión.¹

La inactividad física en el paciente con EPOC acarrea menor calidad de vida y mayor tasa de hospitalización y mortalidad.⁵⁰ En contraposición, la realización de actividad física de forma regular mejora las comorbilidades de estos pacientes⁵¹

A la hora de prescribir la actividad física no hay consenso sobre unas recomendaciones específicas. No obstante, el entrenamiento siempre debe ser individualizado, considerando la capacidad de ejercicio y las comorbilidades del paciente.⁵² Es aconsejable que realicen ejercicios de resistencia al 60-80% del trabajo o frecuencia cardíaca máximos limitado por síntomas o hasta una sensación de disnea o fatiga de 4 a 6 (moderada-grave) según la escala de Borg.¹

Aumentar la fuerza de los músculos inspiratorios con el entrenamiento no ha demostrado mejorar el rendimiento, reducir la disnea o mejorar la calidad de vida de estos pacientes cuando se añade a un programa integral de rehabilitación pulmonar.^{53, 54}

Nutrición

La desnutrición influye sobre el aparato respiratorio afectando a la musculatura respiratoria, el parénquima pulmonar y el sistema inmunitario.

Los pacientes con EPOC evolucionan peor si tienen un IMC bajo y una masa libre de grasa baja.⁵⁵ En pacientes desnutridos con EPOC la suplementación nutricional ha demostrado mejoras significativas tanto en el test de marcha de 6 minutos, como en la fuerza de los músculos respiratorios y en general en su calidad de vida.⁵⁶

2.9. Mitoquinas

La disfunción mitocondrial desempeña un papel central tanto en los aspectos morfológicos como fisiopatológicos de la EPOC a nivel broncopulmonar, muscular e inmunológico^{57,58}. El concepto “disfunción mitocondrial” abarca la generación excesiva de ROS mitocondriales – que agrava el estrés oxidativo procedente del humo del tabaco –, los trastornos en la generación de ATP con acúmulo de metabolitos del ciclo de Krebs o la pérdida del potencial de membrana mitocondrial que propicia la salida al citosol de componentes mitocondriales (mtDNA, ATP, citocromo c, etc) que actúan como DAMPs (“damage associated molecular patterns”) y motivan la activación de la inmunidad innata y, por tanto, la inflamación.

En situaciones de estrés celular el núcleo celular envía señales a las mitocondrias para que modifiquen su función y se adapten al cambio (**señalización anterógrada** del núcleo a las mitocondrias). En cambio, si el estrés se encuentra en las propias mitocondrias (por ejemplo un exceso de producción de ROS o proteínas intramitocondriales mal plegadas) estas mandan señales al núcleo para que modifique la producción de proteínas encargadas de prevenir/corregir el daño mitocondrial producido, como son las chaperonas, antioxidantes o enzimas proteolíticas (**señalización retrógrada autónoma o intracelular**)^{59,60}.

Existe una **señalización retrógrada no autónoma o extracelular** mediada por péptidos generados por mitocondrias, que influyen sobre la propia célula y tienen también efectos a distancia. Desde los trabajos del grupo Dillin^{60,61}, estos péptidos que transmiten señales desde los tejidos con mitocondrias “estresadas” a todo el organismo se denominan **mitoquinas**. La secreción de estas hormonas está elevada cuando existe estrés mitocondrial⁶².

Existen al menos dos tipos de mitoquinas:

- **Mitoquinas primarias** codificadas en el DNA mitocondria (mtDNA). Hasta el momento se conocen la **Humanina** (HN), la **MOTS-c** (“Mitochondrial ORF of the Twelve S-c”), y seis péptidos pequeños similares a la Humanina (SHLPs 1-6). No está aclarado el mecanismo que provoca su síntesis y liberación, aunque posiblemente esté relacionado con una activación ribosomal⁶³.
- **Mitoquinas secundarias** codificadas en el DNA del núcleo (nDNA) cuya secreción está regulada a través de señales de activación procedentes de las mitocondrias “estresadas”⁶³. Dentro de estas, se han identificado el factor de crecimiento fibroblástico 21 (**FGF21**), el factor de crecimiento y desarrollo 15 (**GDF15**), la folistatina y la intermedina.

Humanina: Es un péptido de 21 aa (síntesis mitocondrial) o 24 aa (síntesis citosólica) con múltiples funciones citoprotectoras frente al daño mitocondrial (aumenta la síntesis de antioxidantes y de chaperonas para proteínas mal plegadas), antiinflamatorias (baja las citoquinas inflamatorias y sube las citoquinas antiinflamatorias) y antiapoptóticas (bloquea factores apoptóticos como Bak e IGFBP3) en todos los tejidos en los que se ha estudiado (sistema nervioso, hígado, corazón, pared vascular, músculo esquelético, epitelio pigmentario de la retina, gónadas etc)^{64,65,66}. También tiene efectos

metabólicos beneficiosos (disminuye la resistencia a la insulina a nivel central, protege a la célula beta del páncreas del estrés oxidativo y tiene un feedback negativo con IGF1)^{67, 68}.

MOTS-c: Péptido de 16 aa codificado en el mtDNA y sintetizado exclusivamente en los ribosomas citosólicos. Tiene efectos antioxidantes y metabólicos similares a la Humanina^{65, 69}.

Por otra parte, aumenta la resistencia frente a determinadas infecciones⁷⁰ y disminuye la resorción ósea, por lo que puede tener efectos antiosteoporóticos⁷¹.

GDF15: Los niveles elevados de GDF15 están relacionados con la caquexia del cáncer y con otras situaciones como la EPOC^{72, 73}. Está emergiendo como una de las proteínas con mayor potencial de biomarcador de la agudización de la EPOC. Todavía no se conocen los receptores y vías a través de los cuales GDF15 ejerce sus efectos en las células pulmonares.

FGF21: Es una hormona que aumenta en situaciones de ayuno estimulando la cetogénesis y la beta oxidación de los ácidos grasos.⁷⁴ Este péptido se secreta principalmente por el hígado y en menor proporción por el páncreas, el músculo y el tejido adiposo. En el músculo esquelético la liberación de FGF-21 depende del ayuno, estrés del retículo endoplásmico, disfunción mitocondrial, obesidad, miopatías mitocondriales y del envejecimiento⁷⁵. Esta hormona ha sido propuesta como biomarcador sérico de trastornos mitocondriales específicos del músculo⁷⁶. Además, se considera un agente terapéutico prometedor para la diabetes tipo 2 y la obesidad. En un estudio reciente en ratones, se observó que al inducir una sobreexpresión de FGF21 en el hígado de ratones alimentados con dieta grasa, disminuía el peso corporal, la adiposidad, la enfermedad hepática no alcohólica y la resistencia a la insulina.⁷⁷

Según evoluciona la EPOC, los niveles en sangre de las mitoquinas probablemente se modifiquen como expresión de un mayor deterioro de la función de las mitocondrias.

3. HIPÓTESIS

La EPOC produce una alteración en las mitoquinas que se agrava durante las agudizaciones.

4. OBJETIVOS

1. Describir los niveles de las mitoquinas en un grupo control, un grupo de pacientes con EPOC con distintos grados de obstrucción bronquial y en pacientes con EPOC durante una agudización respiratoria.
2. Valorar las diferencias en las mitoquinas entre los distintos grupos incluidos en el estudio (controles vs. EPOC, EPOC con distintos grados de obstrucción bronquial y EPOC estables vs. EPOC agudizados).
3. Estudiar la correlación de las distintas mitoquinas con variables clínicas de la EPOC, (FEV1, FVC, cociente FEV1/FVC, distancia recorrida en el test de marcha

de 6 minutos, FFMI, calidad de vida estimada por CAT, número de agudizaciones y de ingresos por EPOC).

4. Valorar las diferencias entre pacientes con EPOC con distintas características clínicas categorizados por grado de obstrucción y por grupo clínico GOLD.
5. Establecer la utilidad diagnóstica de las mitoquinas mediante Curvas Operativas de Receptor (curva ROC).

5. METODOLOGÍA

Estudio transversal llevado a cabo entre Octubre de 2018 y Diciembre de 2020 en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en Santander tras obtener la aprobación del Comité Ético de Investigación de Cantabria (CEIC) y el consentimiento informado y por escrito de todos los participantes.

5.1. Diseño del estudio

Con el fin de alcanzar los objetivos anteriormente comentados, se ha optado por un diseño de estudio transversal. Este tipo de estudio sirve para evaluar la posible asociación entre datos clínicos y analíticos de los pacientes de la muestra.

Los participantes del estudio son pacientes con EPOC diagnosticado según criterios GesEPOC mayores de 40 años reclutados a través de las consultas externas de EPOC de Neumología y del servicio de Urgencias del HUMV previo consentimiento informado escrito.

Por su parte, los controles son voluntarios emparejados por edad y sexo con EPOC descartada mediante espirometría. Estos participantes se seleccionaron desde la consulta de deshabituación tabáquica, tanto de especializada como de la consulta de deshabituación tabáquica de primaria (UDESTA).

5.2. Selección de pacientes

Los pacientes que han participado en el estudio están diagnosticados de EPOC, son mayores de 40 años, tienen antecedentes de tabaquismo y un cociente FEV1/FVC < 0,7 tras test broncodilatador en una espirometría. El seguimiento de estos pacientes y el análisis de las muestras de sangre extraídas durante la investigación fue llevado a cabo por dos facultativos especialistas del HUMV.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con insuficiencia renal
- Pacientes sometidos a rehabilitación pulmonar durante al menos 6 meses antes de entrar en el estudio
- Pacientes con otras enfermedades o que reciban tratamiento con fármacos que puedan alterar los parámetros estudiados (enfermedades tumorales activas, sepsis o situaciones críticas de otro origen).

El total de participantes ha sido 166. De estos, 40 son controles y 126 pacientes con EPOC (Figura 2). Dentro de los 126 pacientes, a 95 se le extrajeron las muestras de sangre durante la fase estable de su enfermedad y a 31 de ellos durante una agudización. Consideramos que los pacientes estaban agudizados cuando acudían al Servicio de Urgencias del HUMV con un empeoramiento de los síntomas respiratorios que requería la modificación del tratamiento habitual añadiendo antibioterapia y/o corticoterapia sistémica.

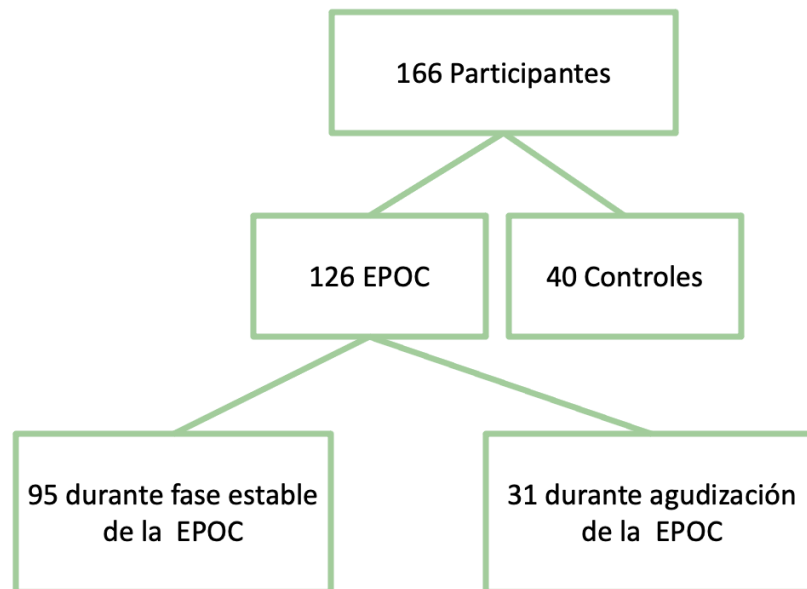


Figura 2. Diagrama de flujo de pacientes seleccionados.

Asimismo, los pacientes incluidos en el estudio fueron subdivididos en distintos grupos clínicos en función de variables dicotómicas según criterios de las guías GOLD.¹

- Pacientes con CAT mayor o igual a 10 se considerarán sintomáticos
- Pacientes con un grado de disnea de la mMRC de 2 o más se considerarán disneicos.
- Pacientes con 2 o más agudizaciones en el año previo o con un ingreso en el año previo se considerarán agudizadores.

5.3. Recogida de datos

Las variables clínicas obtenidas de los pacientes incluidos en el estudio son las siguientes:

- Edad
- Sexo (hombre/mujer)
- Hábito tabáquico (Fuma SI/NO) (IPA)
- Variables de control clínico de la EPOC
 - Puntuación en el cuestionario CAT
 - Grado de disnea de la mMRC
 - Número de agudizaciones en el año previo
 - Número de ingresos en el año previo.
- Variables antropométricas:
 - Talla (cm)

- Peso (kg)
- IMC (kg/m²)
- IMM (kg/m²) (determinado por bioimpedanciometría).
- Función pulmonar:
 - Espirometría donde se valorará la FEV1, FVC y FEV1/FVC previa y posterior a la prueba de broncodilatación (en valores absolutos en ml y %)
 - T6MM con distancia caminada en metros.

Después de aceptar participar en el estudio se obtuvo una muestra de sangre que se almacenó en el Biobanco del IDIVAL a -80°C y se recogieron en la primera visita las variables clínicas, la espirometría, la impedanciometría y el test de marcha de 6 minutos.

Métodos:

La espirometría se ha medido siguiendo las guías de la American Thoracic Society/European Respiratory Society (ATS/ERS) en todos los participantes.⁷⁸

La composición corporal se estimó mediante impedanciometría (OMROM BF511, Omrom, Japan)

El Índice de Masa Magra se calculó mediante el cociente entre la Masa magra (peso – peso de la grasa estimada mediante impedanciómetro) y el cuadrado de la altura.

El test de marcha de 6 minutos se realizó según el protocolo de la American Thoracic Society⁷⁹: se pidió a los participantes que caminasen durante 6 minutos a lo largo de un pasillo recto de 30 metros sin parar. Se recogió la SatO2 al inicio y al final de la prueba, la distancia recorrida en metros y el grado de disnea al final del trayecto medido por la escala de Borg.

5.4. Determinaciones analíticas

Coincidiendo con la consulta asistencial del paciente se les realizó la extracción analítica en condiciones estandarizadas entre las 08.00 y 12.00 de la mañana. A los pacientes se les extrajo 14 ml de sangre en tubo sin anticoagulante para la obtención de suero para la realización de las determinaciones específicas en estos pacientes. Todas las muestras fueron mantenidas antes, durante y tras la extracción, a una temperatura de 0-12°C. Todas las muestras se procesaron antes de que transcurriera una hora desde la extracción. Los tubos para la obtención de suero se dejaron coagular durante 20-30 minutos y posteriormente se centrifugaron a 2000 g. a temperatura ambiente. El suero que se iba a utilizar para la realización de las determinaciones de parámetros hormonales específicos se repartió en criotubos debidamente identificados y se congeló a -40°C a -60°C hasta su posterior procesamiento.

Los parámetros específicos del estudio (Humanina, MOTS-s, FGF-21 y GDF-15) fueron analizados mediante inmunoensayo específico con la utilización de anticuerpos específicos contra los parámetros analizados. Estas técnicas tienen alta sensibilidad y especificidad. A continuación detallamos los inmunoensayos específicos utilizados para cada una de ellas:

- **Humanina:** Inmunoensayo específico tipo sándwich con un kit comercial de Cusabio (Human Putative Humanin Peptide MT-RNR2 ELISA kit, Cusabio Biotech CO, Houston, TX). Sensibilidad <7 pg/ml; Especificidad: no existe reacción cruzada significativa con análogos. Precisión intra e interensayo fue <8 y <10% respectivamente.
- **MOTS-c:** Inmunoensayo de tipo competitivo con un kit comercial de Cloud-Clone Corp. (Mitochondrial Open Reading Frame of the 12S rRNA-c (MOTS-c kit, CEX132Hu, Katy, TX). Sensibilidad <0,96 ng/ml; Especificidad: no existe reacción cruzada significativa con análogos. Precisión intra e interensayo fue <10 y <12% respectivamente.
- **FGF-21:** Inmunoensayo específico tipo sándwich con un kit comercial de RayBiotech (RayBio^R Human FGF-21 ELISA kit, ELH-FGF21, RayBiotech, Norcross, GA. Sensibilidad 8 pg/ml; Especificidad: no existe reacción cruzada significativa con los siguientes compuestos: Human ADAM 12 y 8, B7-H3, BMPR-IB, Cadherins 13 y 4, CDs 155, 229, 48, 58, 84 y 99, CEACAM-5, CFXIV, Cystatins A, B y E/M, Desmoglein2, DR3, ErbB4, ESAM, Galectin 2 y 9, ICOS, JAM A y B, Kallicrein 5, Mickine, Pentraxin 3, Pref-1, Siglec-10, SLAM, SP-D, Syndecan-4, Testican-2, TIM-3, TLR4, TRAIL y ULBP-1análogos. Precisión intra e interensayo fue <10 y <12% respectivamente.
- **GDF-15:** Inmunoensayo específico tipo sándwich con un kit comercial de ThermoFisher Scientific (ThermoFisher Scientific Human GDF-15 ELISA Kit EHGF15, Carlsbad, CA). Sensibilidad 2 pg/ml; Especificidad: no existe reacción cruzada significativa con: Human Angiogenin, BDNF, BLC, CNTF, ENA-78, FGFs 4, 6 y 7, Interleukins 1alfa, 1beta, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 p70, 12p40, 13 y 15, I309, IP-10, G-CSF, GDNF, GM-CSF, IF-gamma, IGFbPs 2,3 y 4, Leptin (OB), MCP-1, 2 y 3, MDC, MIF, MIG, MIPs 1alfa, 1beta, 1delta, PARC, PDGF, RANTES, SCF, SDF-1alfa, TARC, TGF-beta, TIMP 1 y 2, TNF-alfa y beta, TPO y VEGF. Precisión intra e interensayo fue <10 y <12% respectivamente.

En todos los ensayos se incluyeron simultáneamente muestras de todos los grupos analizados para evitar las variaciones interensayo.

5.5. Análisis estadístico de los datos

Los datos se presentan como media \pm desviación estándar para datos con distribución normal o mediana (rango intercuartílico) para datos no paramétricos.

Las correlaciones entre las distintas variables se estimarán mediante el coeficiente de correlación de Spearman rank (rs).

Las diferencias se considerarán significativas si presentan una $p < 0.05$.

Con el fin de evaluar la posible utilidad diagnóstica de la determinación de los niveles de mitoquinas se ha empleado la Curva Operativa de Receptor (Curva COR) donde se representa gráficamente la sensibilidad frente a la especificidad de la prueba. Sirve para

elegir entre dos o más pruebas diagnósticas distintas comparando el área bajo la curva (AUC) de estas. El AUC abarca valores desde 0,5 a 1, donde 1 es el valor diagnóstico perfecto y 0,5 indica que no existe discriminación diagnóstica.

Para el análisis estadístico se utilizó la versión 25.00 del programa estadístico SPSS Software (IBM) para PC.

6. RESULTADOS

6.1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

Las características demográficas y clínicas se muestran en la **Tabla 3**. Participaron en total 166 sujetos. Estos fueron subdivididos en pacientes con EPOC estable, pacientes agudizados y controles. Las principales características fueron: edad 66 (62-70) en el grupo EPOC estable, 70 (61,75-74,25) en los agudizados y 65 (62-67,75) en el grupo control, 59% varones con obstrucción moderada (FEV1 $54,42 \pm 21,24\%$ en los pacientes con EPOC estable y FEV1 $51,26 \pm 17,83\%$ en los paciente con EPOC agudizados), índice de masa libre de grasa de $18,22 (15,63-20,37) \text{ kg/m}^2$ en el grupo de EPOC estable, $18,39 (17,45-23,64) \text{ kg/m}^2$ en el grupo de agudizados y $19,99 (17,03-21,37) \text{ kg/m}^2$ en los controles y con una distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos de 445 (360-500) m en EPOC estable, 430 (350-485) m en agudizados y 540 (450-577) m en controles.

Al comparar la distribución de las variables a estudio en el grupo EPOC estable con el grupo control se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en: la FVC medida en mililitros y como porcentaje ($p=0,001$), FEV1 medido en mililitros y como porcentaje ($p<0,001$), en el cociente FEV1/FVC ($p<0,001$), en el CAT ($p<0,001$), FFMI (kg/m^2) ($p=0,018$) y en el T6MM en metros ($p<0,001$). Sin embargo, estas variables no han mostrado diferencias significativas en su distribución en el grupo de EPOC estable y en agudizados.

6.2. Descripción de los niveles de mitoquinas en los grupos del estudio

Las diferencias en los niveles de las distintas mitoquinas en pacientes con EPOC estable, agudizados y en los contrales se puede observar en la **Tabla 3**. Al comparar el grupo de pacientes con EPOC estable y el grupo de agudizados existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de mitoquinas en ambos grupos. Los niveles de FGF-21 (pg/ml), Humanina (pg/ml) y MOTS-c (ng/ml) son menores en los pacientes agudizados que en los EPOC estable: $p=0,01$ para FGF-21, $p=0,002$ para Humanina y $p<0,001$ para MOTS-c. Por su parte, los niveles de GDF-15 (pg/ml) se encuentran elevados en los pacientes agudizados en comparación con los EPOC estable ($p<0,001$).

Sin embargo, al comparar el grupo de pacientes con EPOC estable con los controles no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las mitoquinas estudiadas.

Tabla 3: Características de los grupos del estudio.

VARIABLE	EPOC n= 95	Agudizados n= 31	p (EPOC estables Vs. Agudizados)	Control n= 40	p (EPOC Vs. Controles)
Edad	66 (62-70)	70 (61,75-74,25)	0,098	65 (62-67,75)	0,262
Sexo Varón n(%)	52 (54%)	18 (58%)	0,263	28 (70%)	0,127
FGF-21 (pg/ml)	317,10 (152,70-549,23)	159,90 (100,50-284,70)	0,01	242,10 (136,50-426,30)	0,400
GDF-15 (pg/ml)	1101 (896,50-1617)	2081 (1104-3341)	<0,001	1126 (736,50-1662)	0,402
MOTS-c (ng/ml)	828,60 (655,75-999,40)	530 (452-654)	<0,001	745,30 (603,50-897)	0,255
Humanina (pg/ml)	495 (305,25-734)	344 (204,50-420)	0,002	362 (299,25-653)	0,412
FVC (ml)	2570 (2070-3390)	2920 (2240-3700)	0,237	3320 (2790-4040)	0,001
FVC (%)	84,35±20,37	92,30±23,25	0,105	101,18±19,85	0,001
FEV1 (ml)	1270 (830-1760)	1190 (960-1610)	0,794	2610 (2057-3190)	<0,001
FEV1 (%)	54,42±21,24	51,26±17,83	0,511	98,68±19,47	<0,001
FEV1/FVC	0,4942 (0,401-0,5192)	0,4075 (0,4286-0,4351)	0,065	0,7861 (0,7375-0,7896)	<0,001
CAT	13 (8-19)	12 (6,50-18,50)	0,808	3 (1-5)	<0,001
IMC (Kg/m2)	27,12±5,15	27,75±5,34	0,603	27,63±4,75	0,553
FFMI (Kg/m2)	18,22 (15,63-20,37)	18,39 (17,45-23,64)	0,167	19,99 (17,03 -21,37)	0,018
T6MM (m)	445 (360-500)	430 (350-485)	0,678	540 (450-577)	<0,001
GOLD A/B/C/D n(%)	29/27/8/31	2/11/3/15	0,057	-	-
GOLD I/II/III/IV n(%)	13/44/25/13	1/15/13/2	0,155	-	-
2 agudizaciones o más en el año previo n(%)	33 (34,7%)	8 (25%)	0,077	-	-
1 ingreso o más en el año previo n(%)	21 (22,1%)	6 (19%)	0,073	-	-

Los datos cuantitativos se expresan como media ± desviación estándar o mediana (rango intercuartílico) según la distribución de la variable.

EPOC= Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica; FGF-21= Factor de crecimiento fibroblástico 21; GDF-15= Factor de crecimiento y desarrollo 15; MOTS-c= Mitochondrial ORF of the Twelve S-c.; FVC= Capacidad Vital Forzada; FEV1= Volumen espiratorio forzado en el primer segundo; CAT= COPD Assessment Test; IMC= Índice de masa corporal; FFMI= Índice de masa corporal libre de grasa; T6MM= Test de marcha de 6 minutos; GOLD= Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease

6.3. Correlación de los niveles de las mitoquinas con distintas variables clínicas de la EPOC

La **Tabla 4.** muestra la correlación entre las distintas mitoquinas, donde destaca la correlación negativa entre los niveles de MOTS-c y GDF-15 entre sí ($r = -0,232$ $p = 0,044$).

En la **Tabla 5** se describen las correlaciones de las mitoquinas con distintas variables clínicas de la EPOC. Las más relevantes son la correlación entre los niveles de FGF-21 y la puntuación en el CAT ($r = -0,240$ $p = 0,031$), entre los niveles de FGF-21 y el FEV1 expresado en porcentaje ($r = 0,246$ $p = 0,021$) y entre los niveles de FGF-21 y el FEV1 en mililitros ($r = 0,253$ $p = 0,017$).

Por su parte, los niveles de GDF-15 han mostrado correlacionarse con los metros andados en el test de marcha de 6 minutos ($r = -0,363$ $p = 0,001$) y con la edad ($r = 0,464$ $p = 0,000$). En el caso de MOTS-c y Humanina no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con ninguna de las variables estudiadas.

Tabla 4: Correlación entre las Mitoquinas.

	FGF-21 (pg/ml)		GDF-15 (pg/ml)		MOTS-c (ng/ml)		Humanina (pg/ml)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
FGF-21 (pg/ml)	1	.	0,152	0,156	0,057	0,634	0,570	0,668
GDF-15 (pg/ml)	0,152	0,156	1	.	-0,232	0,044	0,045	0,730
MOTS-c (ng/ml)	0,057	0,634	-0,232	0,044	1	.	0,180	0,215
Humanina (pg/ml)	0,057	0,067	0,045	0,730	0,180	0,215	1	.

FGF-21= Factor de crecimiento fibroblástico 21, GDF-15= Factor de crecimiento y desarrollo 15, MOTS-c= Mitochondrial ORF of the Twelve S-c.

Tabla 5: Correlación entre las mitoquinas y características clínicas de los EPOC.

	CAT score		T6MM		Edad		FEV1 (%)		FEV1 (ml)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
FGF-21 (pg/ml)	-0,240	0,031	-	-	-	-	0,246	0,021	0,253	0,017
GDF-15 (pg/ml)	-	-	-0,363	0,001	0,464	0,000	-	-	-	-

CAT= COPD Assessment Test; T6MM= Test de marcha de 6 minutos; FEV1= Volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FGF-21= Factor de crecimiento fibroblástico 21; GDF-15= Factor de crecimiento y desarrollo 15.

6.4. Diferencias entre pacientes con EPOC con distintas características clínicas categorizados por grado de obstrucción y por grupo clínico GOLD.

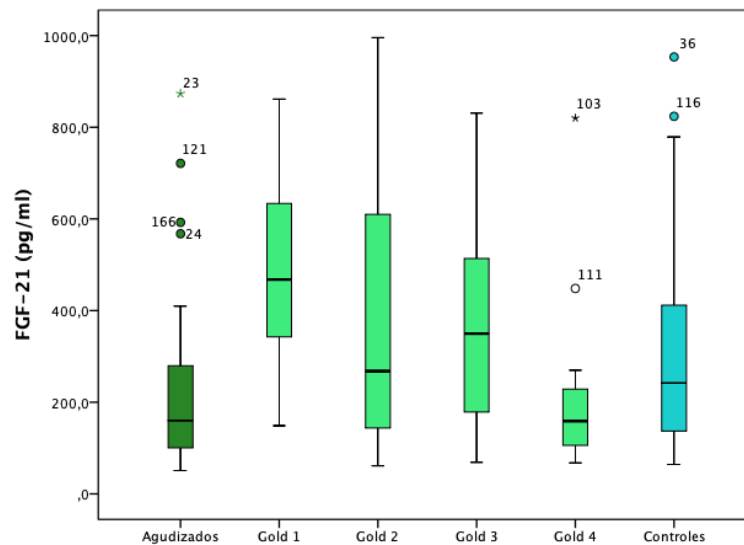


Figura 3. FGF-21 (pg/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con los distintos grupos de obstrucción GOLD y un grupo de fumadores sanos.

La **Figura 3.** representa la distribución de los niveles de FGF-21 (pg/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con grupos de obstrucción GOLD y con un grupo control de fumadores sanos. La mediana en los agudizados se encuentra en 159,90 pg/ml similar a la del grupo GOLD 4 (156,15 pg/ml). Por su parte, en pacientes con menor obstrucción (GOLD 1, 2 y 3) y en el grupo control, la mediana de los valores de FGF-21 es mayor 387 pg/ml; 228,9 pg/ml; 277,950 pg/ml y 242 pg/ml respectivamente.

Los niveles de FGF-21 son menores en los agudizados que en los EPOC estable con una obstrucción GOLD 1, 2 y 3, similares a los niveles de los GOLD 4 y menores que en los controles.

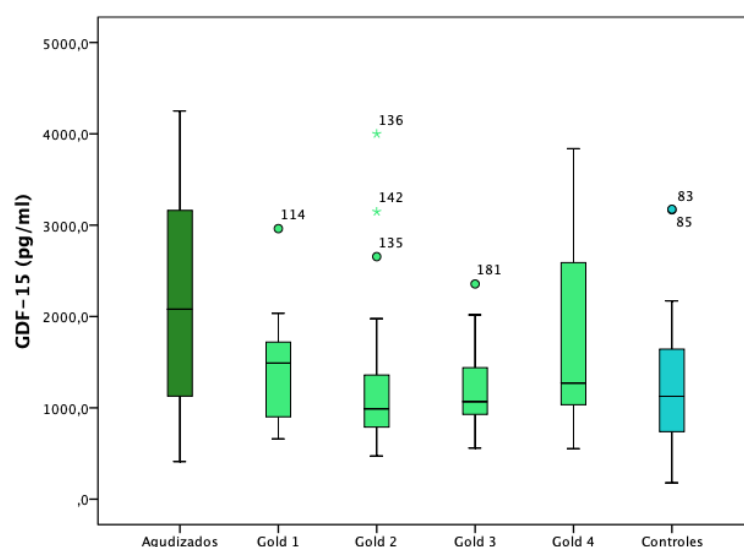


Figura 4. GDF-15 (pg/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con los distintos grupos de obstrucción GOLD y un grupo de fumadores sanos.

En la **Figura 4**, se puede ver la distribución de los niveles de GDF-15(pg/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con grupos de obstrucción GOLD y con un grupo control de fumadores sanos. En los agudizados la mediana de los niveles de esta mitoquina es de 2081 pg/ml estando el 50% de la muestra entre los 1104 pg/m y los 3341 pg/ml. Los niveles de las medianas del resto de grupos son menores: 1297 pg/ml en los GOLD 1, 1101 pg/ml en los Gold 2, 1086 pg/ml en los GOLD 3, 1262 pg/ml en los GOLD 4 y 1126 pg/ml en los controles. Una vez más, los grupos que más se asemejan en cuanto a la distribución de los niveles de la mitoquina son los pacientes agudizados y los GOLD 4.

En los pacientes agudizados los niveles de GDF-15 son más elevados que en los pacientes con EPOC estable y que en los controles.

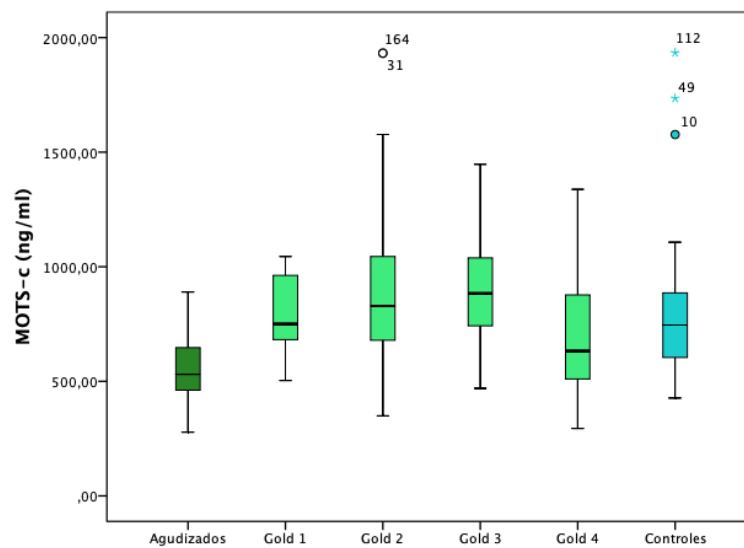


Figura 5. MOTS-c (ng/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con los distintos grupos de obstrucción GOLD y un grupo de fumadores sanos.

La distribución de los niveles de MOTS-c (ng/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con grupos de obstrucción GOLD y con un grupo control de fumadores sanos se muestra en la **Figura 5**. La mediana de los niveles de MOTS-c en los pacientes agudizados está en 530 ng/ml. El 50% de los pacientes agudizados tiene valores de MOTS-c de 452 ng/ml a 654 ng/ml. En el 50% de los pacientes con EPOC estable GOLD 1 los niveles van desde 573,2 ng/ml a 895,5 ng/ml, en los GOLD 2 de 556 ng/ml a 1016,4 ng/ml, en los GOLD 3 de 585,5 ng/ml a 937,8 ng/ml y en los GOLD 4 van de 448 ng/ml hasta 848 ng/ml. En los controles la distribución de los niveles de MOTS-c fue de 745,3 (603,5-897) ng/ml.

Como se puede observar, los niveles de MOTS-c parecen estar disminuidos en los pacientes agudizados en comparación con el resto de grupos del estudio.

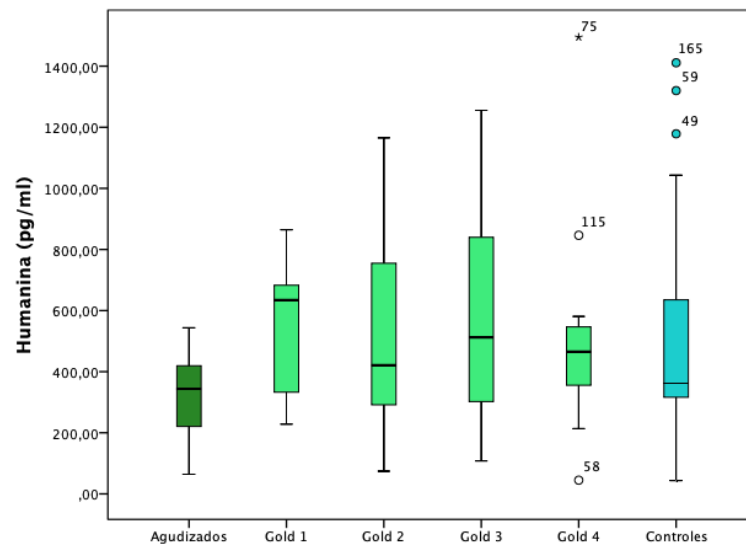


Figura 6. Humanina (pg/ml) en pacientes con agudización por EPOC comparado con los distintos grupos de obstrucción GOLD y un grupo de fumadores sanos.

Como muestra la **Figura 6**, el 50% de los agudizados tienen niveles de Humanina entre 204,5 pg/ml y 420 pg/ml siendo la mediana 344 pg/ml. Sin embargo, los niveles de Humanina del grupo de EPOC GOLD 1, 2 y 3 varían alrededor de cifras más elevadas: 272,5-723 pg/ml; 291,5-582 pg/ml y 273,25-688 pg/ml respectivamente. En el 50% de los pacientes GOLD 4 los niveles de Humanina van de 322,5 pg/ml a 529,6 pg/ml. En lo que se refiere a los controles, los niveles de Humanina se mueven entre 299,2 pg/ml y 653 pg/ml.

Los niveles de esta mitoquina son menores en los pacientes agudizados en comparación con los pacientes EPOC con obstrucción GOLD 1, 2, 3 y 4 y en comparación con el grupo control. No obstante, la distribución de los niveles de Humanina en los agudizados y en los GOLD 4 guardan cierta similitud. Esto mismo sucedía al comparar la distribución de los niveles de FGF-21 y GDF-15.

6.5. Utilidad diagnóstica de las mitoquinas.

Se valoraron las áreas bajo la curva de las distintas mitoquinas para establecer el diagnóstico de agudización por EPOC. En la **Figura 7**, se presentan las distintas curvas COR. En ella se puede ver cómo los niveles de FGF-21 y Humanina están en la línea de no-discriminación o diagonal, lo que significa que la estimación sería aleatoria y, por tanto, no son pruebas útiles para el diagnóstico de una agudización de la EPOC. Sin embargo, en la **Tabla 7**, donde se muestran los valores de las áreas bajo la curva (AUC) de las distintas mitoquinas destaca un área para GDF-15 (pg/ml) de 0,707. Esto significa que, estando los niveles de GDF-15 (pg/ml) elevados, existe un 70,7% de probabilidad de que el diagnóstico realizado a un paciente agudizado sea más correcto que el de una persona no agudizada escogida al azar.

Se considera que el valor de la variable que marca diagnóstico es mayor en enfermos que en sanos. Si invertimos la positividad de la prueba considerando diagnósticos los niveles bajos de mitoquinas, encontramos que MOTS-c (ng/ml) tendría un área bajo la curva de 0,806. Existe, por tanto, un 80,6% de probabilidad de que estén más bajos los niveles de MOTS-c (ng/ml) en los pacientes agudizados que en personas sanas escogidas al azar.

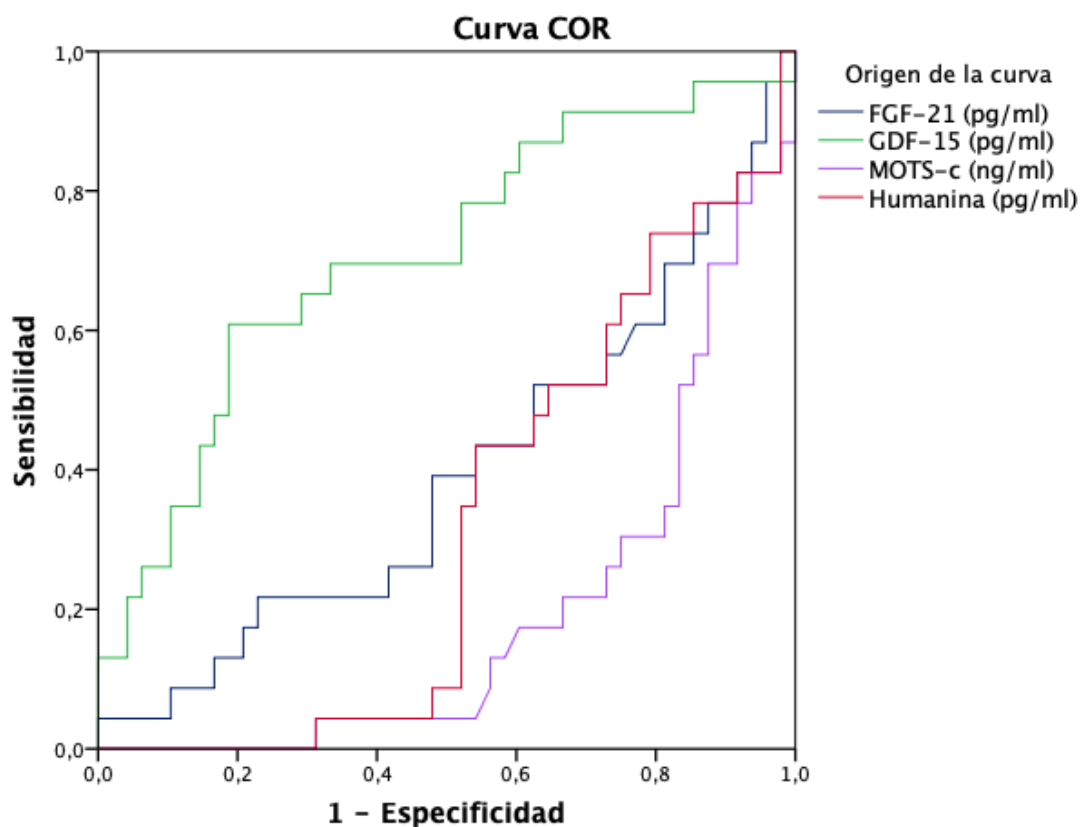


Figura 7. Curvas COR de las distintas mitoquinas (FGF-21, GDF-15, MOTS-c, Humanina)

Tabla 7: Área bajo la curva de las distintas mitoquinas para establecer el diagnóstico de agudización por EPOC.

Variable de resultado de prueba	Área
FGF-21 (pg/ml)	0,393
GDF-15 (pg/ml)	0,707
MOTS-c (ng/ml)	0,194
Humanina (pg/ml)	0,315

Las variables de resultado de prueba: FGF-21 (pg/ml), MOTS-c (ng/ml) tienen, como mínimo, un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Las estadísticas podrían estar sesgadas.

EPOC= Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica; FGF-21= Factor de crecimiento fibroblástico 21; GDF-15= Factor de crecimiento y desarrollo 15; MOTS-c= Mitochondrial ORF of the Twelve S-c

7. DISCUSIÓN

7.1. Principales hallazgos

Durante el estudio evidenciamos que los niveles de las distintas mitoquinas estaban alterados en los pacientes agudizados con respecto a los pacientes con EPOC estable. En el caso de FGF-21 (pg/ml), Humanina (pg/ml) y MOTS-c (ng/ml) los niveles eran menores en los pacientes agudizados y en el caso de GDF-15 (pg/ml) los niveles estaban más elevados en los pacientes agudizados. No obstante, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de las mitoquinas estudiadas al comparar los pacientes EPOC con los controles.

Al estudiar las correlaciones entre las mitoquinas y entre estas y distintas variables clínicas se vio que existía una correlación negativa entre los niveles de MOTS-c (ng/ml) y GDF-15 (pg/ml). Asimismo, los niveles de FGF-21 (pg/ml) correlacionaban negativamente con la puntuación en el CAT, y positivamente con el FEV1 medido tanto en porcentaje como en mililitros. Por su parte, GDF-15 (pg/ml) mostró una correlación negativa con el test de marcha de 6 minutos y positiva con la edad.

Por último, hemos objetivado la potencial utilidad diagnóstica de los niveles de GDF-15 (pg/ml) y de MOTS-c (ng/ml) para diagnosticar una agudización de la EPOC.

7.2. Comparación con otros estudios

Los mecanismos subyacentes a los efectos de estas mitoquinas en la vía aérea aún no son completamente entendidos. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que investiga la posible relación entre los niveles de Humanina y la EPOC.

En el artículo de Rutten et al ⁸⁰ se exponían varias vías de señalización involucradas en el envejecimiento de los pacientes con EPOC. Observaron que los niveles de klotho soluble (enzima que activa ciertos factores del crecimiento de fibroblastos como FGF-21) estaban significativamente disminuidos en los pacientes con EPOC en comparación con los controles de fumadores o no fumadores. Esta enzima, tiene dos subunidades: a-klotho y b-klotho que desencadenan distintas funciones fisiológicas cuando se unen a sus correceptores FGF-23 y FGF-21. La deficiencia de klotho no proporcionaría suficientes lugares de unión para FGF-23 y FGF-21 y no podrían llevarse a cabo sus funciones fisiológicas. En este artículo se sugería que los niveles elevados de FGF-21 o FGF-23 podrían estar involucrados en los mecanismos del proceso de envejecimiento relacionado con la EPOC. En nuestro estudio los niveles de FGF-21 no han mostrado diferencias al comparar el grupo de pacientes EPOC estable con el grupo control. Sin embargo, sí se ha podido evidenciar que los niveles de esta mitoquina se encontraban disminuidos en los pacientes agudizados respecto a los pacientes con EPOC estable.

En lo referente a MOTS-c, en un estudio reciente se ha visto que los niveles de esta mitoquina eran significativamente más bajos en pacientes con apnea obstructiva del sueño en comparación con los controles sanos ($p < 0,000$) y estos niveles disminuían a medida que aumentaba la gravedad de la apnea obstructiva del sueño. ⁸¹ También en este estudio, se encontró una correlación negativa entre los niveles séricos de MOTS-C y el IMC ($r = -0,382$ $p < 0,001$) que en nuestro estudio no se ha podido observar.

La relación entre la EPOC y los niveles de GDF15 es la más estudiada hasta la fecha. A pesar de no estar completamente claras las vías reguladoras de la producción de GDF15, su expresión está influenciada por características que se presentan en la EPOC, como la hipoxia, el estrés oxidativo intracelular y el aumento de citosinas inflamatorias.⁸²

Los niveles séricos elevados de GDF15 ya han mostrado correlacionar con las exacerbaciones y disminución de la función pulmonar en la EPOC en otros estudios.⁸³ Los resultados que hemos obtenido se corresponden con estos hallazgos. Además, hemos observado que los niveles de esta mitoquina correlacionan negativamente con el T6MM y positivamente con la edad. Recientemente se ha publicado un estudio que evidencia otras correlaciones negativas de GDF15 sérico como con el ejercicio y la versión japonesa del Test de Evaluación Cognitiva de Montreal. En este estudio se demostró que los niveles altos de GDF15 en suero se relacionaban con un estilo de vida sedentario y con riesgo cognitivo.⁸⁴

Se ha visto que en ratones transgénicos que expresan GDF15 humano la infección por rinovirus humano conduce a un aumento de la inflamación pulmonar como consecuencia de GDF15. El humo de tabaco aumenta en humanos la expresión de esta mitoquina haciendo que los pacientes con EPOC estén más predispuestos a desencadenar una inflamación pulmonar mayor ante el contagio por rinovirus y desarrollar una exacerbación de su enfermedad. Estos hallazgos podrían justificar que los niveles de GDF15 se encuentren más elevados en los pacientes agudizados que en los estables.⁸⁵

Existe al menos un estudio donde concluyen que GDF15 es un nuevo biomarcador predictor de la agudización de la EPOC⁸⁶. En él, los pacientes agudizados tuvieron mayores concentraciones de GDF-15 que los pacientes con EPOC estable y que los controles. Nuestros resultados van en consonancia con los de este estudio. En la curva COR GDF-15 alcanzó un área bajo la curva de 0,78, similar a la de nuestro estudio (0,707).

⁸⁶

7.3. Fortalezas y limitaciones

La principal fortaleza del estudio es que fue diseñado específicamente para pacientes con EPOC y se han medido los niveles en sangre de las mitoquinas tanto en pacientes con EPOC estable como en pacientes agudizados y en un grupo de controles sanos. Además, hemos recogido variables del control clínico de la EPOC, de la función pulmonar y variables antropométricas que podrían influir en los niveles de las mitoquinas.

Nuestro estudio tiene limitaciones. En primer lugar, es un estudio en un único centro, esto podría conducir a resultados no extrapolables en otros entornos, dependiendo de la raza/factores étnicos, estado nutricional o composición corporal. Si bien el tamaño muestral es aceptable para el cometido de este trabajo, es necesario un estudio multicéntrico con un mayor número de pacientes para confirmar los resultados obtenidos.

Además, no se ha tenido en cuenta la posible influencia de los tratamientos que hayan podido recibir los pacientes agudizados antes de la extracción de las muestras. Las

mitoquinas intervienen en diversos procesos inflamatorios y en nuestro estudio no se ha considerado la coexistencia de otras enfermedades con mecanismos inflamatorios como las enfermedades inflamatorias intestinales o enfermedades autoinmunes. Por último, se ha visto que algunas de las mitoquinas están íntimamente relacionadas con la resistencia a la insulina, por lo que la diabetes podría haber actuado como factor de confusión.

8. CONCLUSIÓN

En conclusión, los niveles séricos de las mitoquinas FGF-21, GDF15, MOTS-c y Humanina se encuentran alterados durante las agudizaciones de la EPOC. Asimismo, se ha demostrado que existe una correlación entre los niveles de dos de ellas (FGF-21 y GDF15) con algunas variables clínicas de la EPOC. Si bien hemos observado que la utilidad de la determinación de GDF-15 y MOTS-c para establecer el diagnóstico de una agudización de la EPOC es prometedora, son necesarios más estudios para evaluar la universalidad de estos resultados.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) 2021.
2. Definición, etiología, factores de riesgo y fenotipos de la EPOC. Arch Bronconeumol 2017;53:7–10.
3. Halbert RJ, Natoli JL, Gano A, et al. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. Eur Respir J 2006;28:523-32.
4. Nuevo estudio sobre la prevalencia de la EPOC en España: resumen del protocolo EPISCAN II, 10 años después de EPISCAN
5. Rabe KF, Henrik Watz MD. Chronic obstructive pulmonary disease. The Lancet 2017;389:1931-1940
6. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. Br med J 1977;1:1645-8
7. Kohansal R, Martinez-Camblor P, Agustí A, et al. The natural history of chronic airflow obstruction revisited: An analysis of the Framingham Offspring Cohort. Am J Respir Crit Care Med 2009;180:3–10.
8. Lokke A, Lange P, Scharling H, et al. Developing COPD: a 25 years follows up study of the general population. Thorax 2006;61:935-9
9. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in nonsmokers. Lancet 2009;374: 733-43.
10. Sila R, Oyarzun M, Olloquequi J. Pathogenic mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease due to biomass smoke exposure. Arch Bronconeumol 2015;51:285-92.
11. Golpe R, Sanjuán López P, Cano Jiménez E, et al. Distribution of clinical phenotypes in patients with chronic obstructive pulmonary disease caused by biomass and tobacco smoke. Arch Bronconeumol 2014;50:318-24.
12. Orozco-Levi M, García-Aymerich J, Villar J, et al. Wood smoke exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 2006;27:542-6
13. Miravittles M, Worth H, Soler Cataluna JJ, et al. Observational study to characterise 24-hour COPD symptoms and their relationship with patient-reported outcomes: results from the ASSESS study. Respir Res 2014;15:122.
14. Medical Research Council Committee on the Aetiology of Chronic Bronchitis. Definition and classification of chronic bronchitis for clinical and epidemiological purposes. A report to the Medical Research Council by their Committee on the Aetiology of Chronic Bronchitis. Lancet 1965;1:775-9.
15. Soler N, Esperatti M, Ewig S, et al. Sputum purulence-guided antibiotic use in hospitalised patients with exacerbations of COPD. Eur Respir J 2012; 40:1344-53.
16. Brusse-Keizer MG, Grotenhuis AJ, Kerstjens HA, et al. Relation of sputum colour to bacterial load in acute exacerbations of COPD. Respir Med 2009;103:601-6.
17. Attaway AH, Welch N, Hatipoglu U, et al. Muscle loss contributes to higher morbidity and mortality in COPD: An analysis of national trends. *Respirology* 2021;26:62-71.
18. Rutten EP, Calverley PM, Casaburi R, et al. Changes in body composition in patients with chronic obstructive pulmonary disease: do they influence patient-related outcomes? Ann Nutr Metab 2013;63:239-247

19. Blakemore A, Dickens C, Chew-Graham CA, et al. Depression predicts emergency care use in people with chronic obstructive pulmonary disease: a large cohort study in primary care. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2019;14:1343-53
20. Vestbo J, Hurd SS, Agustí AG, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease GOLD executive summary. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. American Thoracic Society 2013;187:347-65
21. Miravittles M, Ferrer M, Pont À, et al. Effect of exacerbations on quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A 2 year follow up study. *Thorax* 2004;59:387-95.
22. Celli BR, Barnes PJ. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal* 2007;29:1224-38.
23. Singh R, Mackay AJ, Wedzicha JA. Infection and comorbidity. *Eur Respir Monogr*. 2013;59:64-79.
24. García P, García JP, Hernández R, et al. Exacerbación infecciosa de enfermedad pulmonar obstructiva crónica *Neumología y cirugía de tórax*. 2008;67:104-116
25. Miravittles M, Moragas A, Hernández S, et al. Is it possible to identify exacerbations of mild to moderate COPD that do not require antibiotic treatment? *Chest*. 2013;144:1571-7.
26. Grupo de Trabajo de GesEPOC. Agudización de la EPOC. *Arch Bronconeumol*. 2017;53:46-62.
27. Cote CG, Dordelly LJ, Celli BR. Impact of COPD exacerbation on patient-centered outcomes. *Chest* 2007;131:696-704.
28. Kirsten DK, Taube C, Lehnigk B, Jörres RA, Magnussen H. Exercise training improves recovery in patients with COPD after an acute exacerbation. *Respir Med*. 1998;92(10):1191-8.
29. Arnedillo Muñoz A. Impacto de las agudizaciones e ingresos en la EPOC. *Arch Bronconeumol* 2010;46(S8):8-14.
30. Miravittles M, Espinosa C, Fernández-Laso E, et al. Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. *Chest*. 1999;116:40-6.
31. Gayle AV, Axson EL, Bloom CI, et al. Changing causes of death for patients with chronic respiratory disease in England, 2005-2015. *Thorax* 2019;74:483-91.
32. Marin JM, Alfageme I, Almagro P, et al. Multicomponent indices to predict survival in COPD: The COCOMICS study. *Eur Respir J*. 2013;42:323-32.
33. Jones PW, Wijkstra OJ. Quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir Mon*. 2006;38:375-86.
34. Ruchlin H, Dasbach E. An economic overview of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacoeconomics*. 2001;19:623-42.
35. Hurst JR, Vestbo J, Anzueto A, et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2010;363:1128-38.
36. García P, García JP, Hernández R, et al. Exacerbación infecciosa de enfermedad pulmonar obstructiva crónica *Neumología y cirugía de tórax*. 2008;67:104-116
37. Hansen JE, Sun XG, Wasserman K. Spirometric criteria for airway obstruction: Use percentage of FEV 1/FVC ratio below the fifth percentile, not < 70%. *Chest*. 2007;131:349-55.

38. Celli BR, Cote CG, Marín JM, et al. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2004;350:1005-12.
39. Soler-Cataluña JJ, Martínez-García MA, Sánchez L, et al. Severe exacerbations and BODE index: two independent risk factors for death in male COPD patients. *Respir Med*. 2009;103:692-9.
40. Han MK, Agustí A, Calverley PM, et al. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes. The future of COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:598-604.
41. Grydeland TB, Thorsen E, Dirksen A, et al. Quantitative CT measures of emphysema and airway wall thickness are related to D(L)CO. *Respir Med*. 2011;105:343-51.
42. Nishimura M, Makita H, Nagai K, et al. Annual change in pulmonary function and clinical phenotype in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185:44-52.
43. Martínez-García F, Soler-Cataluña JJ, Donat Y, et al. Factors associated with bronchiectasis in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Chest*. 2011;140:1130-7.
44. American Thoracic Society. Chronic bronchitis, asthma, and pulmonary emphysema, a statement by the Committee on Diagnostic Standards for Nontuberculous Respiratory Diseases. *Am Rev Respir Dis*. 1962;85:762-8.
45. Comorbilidades en la EPOC. *Arch Bronconeumol*. 2017;53:11-14.
46. Chen W, Thomas J, Sadatsafavi M, Fitz Gerald JM. Risk of cardiovascular comorbidity in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med*. 2015;3:631-9.
47. Donaldson GC, Hurst JR, Smith CJ, et al. Increased risk of myocardial infarction and stroke following exacerbation of COPD. *Chest*. 2010;137:1091-7.
48. Pavasini R, D'Ascenzo F, Campo G, et al. Cardiac troponin elevation predicts all-cause mortality in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: Systematic review and metaanalysis. *Int J Cardiol*. 2015;191:187-93.
49. Ho TW, Tsai YJ, Ruan SY, HINT Study Group. In-hospital and one-year mortality and their predictors in patients hospitalized for first-ever chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: a nationwide population-based study. *PLoS One*. 2014;9:114866.
50. Watz H, Pitta F, Rochester CL, et al. An official European Respiratory Society statement on physical activity in COPD. *Eur Respir J* 2014; 44:1521-37.
51. Anderson L, Thompson DR, Oldridge N, et al. Exercise-based cardiac rehabilitation for coronary heart disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;1:CD001800
52. Vogiatzis I, Rochester CL, Spruit MA, American Thoracic Society/European Respiratory Society Task Force on Policy in Pulmonary Rehabilitation. Increasing implementation and delivery of pulmonary rehabilitation: key messages from the new ATS/ERS policy statement. *Eur Respir J* 2016; 47:1336-41.
53. Charususin N, Gosselink R, Decramer M, et al. Randomised controlled trial of adjunctive inspiratory muscle training for patients with COPD. *Thorax* 2018; 73:942-50.

54. Chuang HY, Chang HY, Fang YY, et al. The effects of threshold inspiratory muscle training in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A randomised experimental study. *J Clin Nurs* 2017; 26:4830-8.
55. Guo Y, Zhang T, Wang Z, et al. Body mass index and mortality in chronic obstructive pulmonary disease: A dose-response meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95.
56. Gouzi F, Maury J, Heraud N, et al. Additional Effects of Nutritional Antioxidant Supplementation on Peripheral Muscle during Pulmonary Rehabilitation in COPD Patients: A Randomized Controlled Trial. *Oxid Med Cell Longev* 2019
57. Jiang Y, Wang X, Hu D. Mitochondrial alterations during oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017;12:1153–62.
58. Liu X, Chen Z. The pathophysiological role of mitochondrial oxidative stress in lung diseases. *J Transl Med.* 2017 13;15:207.
59. Quirós PM, Mottis A, Auwerx J. Mitonuclear communication in homeostasis and stress. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016 Apr;17:213–26.
60. Durieux J, Wolff S, Dillin A. The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity. *Cell.* 2011 Jan 7;144:79–91.
61. Schinzel R, Dillin A. Endocrine aspects of organelle stress—cell non-autonomous signaling of mitochondria and the ER. *Curr Opin Cell Biol.* 2015;33:102–10.
62. Chen AC-H, Burr L, McGuckin MA. Oxidative and endoplasmic reticulum stress in respiratory disease. *Clin Transl Immunol.* 2018;7:1019.
63. Quirós PM, Prado MA, Zamboni N, et al. Multi-omics analysis identifies ATF4 as a key regulator of the mitochondrial stress response in mammals. *J Cell Biol.* 2017;216:2027–45.
64. Gong Z, Tasset I. Humanin enhances the cellular response to stress by activation of chaperone-mediated autophagy. *Oncotarget.* 2018;9:10832–3.
65. Lee C, Zeng J, Drew BG, et al. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance. *Cell Metab.* 2015;21:443–54.
66. Sreekumar PG, Ishikawa K, Spee C, et al. The Mitochondrial-Derived Peptide Humanin Protects RPE Cells From Oxidative Stress, Senescence, and Mitochondrial Dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57:1238–53.
67. Gong Z, Tas E, Muzumdar R. Humanin and age-related diseases: a new link? *Front Endocrinol.* 2014;5:210.
68. Kim S-J, Xiao J, Wan J, et al. Mitochondrially derived peptides as novel regulators of metabolism. *J Physiol.* 2017;595:6613–21.
69. Kim KH, Son JM, Benayoun BA, et al. The Mitochondrial-Encoded Peptide MOTS-c Translocates to the Nucleus to Regulate Nuclear Gene Expression in Response to Metabolic Stress. *Cell Metab.* 2018;28:516-524.
70. Zhai D, Ye Z, Jiang Y, et al. MOTS-c peptide increases survival and decreases bacterial load in mice infected with MRSA. *Mol Immunol.* 2017;92:151–60.
71. Ming W, Lu G, Xin S, et al. Mitochondria related peptide MOTS-c suppresses ovariectomy-induced bone loss via AMPK activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 05;476:412–9.

72. Tsai VWW, Husaini Y, Sainsbury A, et al. The MIC-1/GDF15-GFRAL Pathway in Energy Homeostasis: Implications for Obesity, Cachexia, and Other Associated Diseases. *Cell Metab* 2018;28:353–68.
73. Patel MS, Lee J, Baz M, et al. Growth differentiation factor-15 is associated with muscle mass in chronic obstructive pulmonary disease and promotes muscle wasting in vivo. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2016;7:436–48.
74. Fisher FM, Maratos-Flier E. Understanding the Physiology of FGF21. *Annu Rev Physiol* 2016;78:223–41
75. Keipert S, Ost M, Johann K, et al. Skeletal muscle mitochondrial uncoupling drives endocrine cross-talk through the induction of FGF21 as a myokine. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014;306:469–482.
76. Suomalainen A, Elo JM, Pietilainen KH, et al. FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *Lancet Neurol* 2011;10:806–818.
77. Jimenez V, Jambrina C, Casana E, et al. FGF21 gene therapy as treatment for obesity and insulin resistance. *EMBO Mol Med* 2018;10:8791.
78. Celli BR, MacNee W, ATS/ERS Task Force. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J*. 2004;23:932–46.
79. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2002;166: 111–117.
80. Rutten EPA, Gopal P, Wouters EFM, et al. Various Mechanistic Pathways Representing the Aging Process Are Altered in COPD. *Chest* 2016;149:53–61.
81. Baylan FA, Yarar E. Relationship between the mitochondria-derived peptide MOTS-c and insulin resistance in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath* 2021.
82. Albertoni M, Shaw P, Nozaki M, et al. Anoxia induces macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) in glioblastoma cells independently of p53 and HIF-1. *Oncogene* 2002;21:4212–9.
83. Husebo GR, Gronseth R, Lerner L, et al. Growth differentiation factor-15 is a predictor of important disease outcomes in patients with COPD. *Eur. Respir. J*. 2017;49:1601298.
84. Tsunahiko Hirano, Keiko Doi, Kazuto Matsunaga, et al. A Novel Role of Growth Differentiation Factor (GDF)-15 in Overlap with Sedentary Lifestyle and Cognitive Risk in COPD. *Journal of Clinical Medicine* 2020;9:2737
85. Wu Q, Jiang D, Schaefer N, et al. Overproduction of growth differentiation factor 15 promotes human rhinovirus infection and virus-induced inflammation in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2018;314:L514–27.
86. Mutlu LC, Altintas N, Aydin M, et al. Growth Differentiation Factor-15 Is a Novel Biomarker Predicting Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Inflammation* 2015;38:1805–13

10. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mis tutores la Dra. María Teresa García Unzueta y el Dr. Carlos Amado Diago quienes con sus conocimientos y orientación me han guiado durante el desarrollo de este Trabajo de Fin de Grado. En particular agradecer al Dr. Carlos Amado por todo lo que me enseñó durante el mes que estuve con él en consulta, por estar siempre disponible para resolver mis dudas y por contagiarme su entusiasmo con este trabajo y con el mundo de la investigación en general.

Agradecer en especial a la Dra. Paula Martín Audera por las tardes empleadas en rellenar la base de datos y por mostrarme cómo se hacían en el laboratorio las determinaciones de las mitoquinas. Estoy muy agradecida por su incondicional ayuda y confianza desde el principio en que este proyecto lograría los resultados deseados.

También quiero agradecer a la Universidad de Cantabria y al Hospital Universitario Marqués de Valdecilla por brindarme los recursos necesarios para llevar a cabo la investigación, particularmente a los pacientes y al Biobanco Valdecilla (PT17/0015/0019), integrado en la Red Nacional de Biobancos, por su colaboración.

A mis amigas por recordarme que había vida más allá de la facultad incluso en tiempos de COVID-19. Ha sido un camino duro, pero lo conseguimos.

Gracias a David por la paciencia que ha tenido durante toda la carrera, por escucharme hablar de cosas que muchas veces ni siquiera entendía, por el apoyo que me ha dado en esos momentos donde parecía que todo podía conmigo, pero sobre todo por el optimismo que siempre ha intentado contagiarme.

Gracias a mi perra Kira por recibirme dando saltos y moviendo la cola cada vez que llegaba a casa y por todos los paseos que me ayudaban a renovar energías. Solo con eso hacía que cualquier día, por malo que fuera, mejorara.

Agradecer a mis sobrinas Naima y Valeria por las tardes de juegos y las noches de pijama que tanto me ayudaban a conectar con lo que realmente era importante. A José por todos las veces que me ha llevado de un lado para otro, en especial todas las mañanas que ha madrugado para llevarme a la biblioteca, a la facultad o al Hospital de Liencres, por su preocupación y sus abrazos cuando veía que me agobiaba en época de exámenes. Gracias a mi padre por sentirse orgulloso y mandarme fuerzas y palabras de apoyo desde Cuba. Agradecer a mis abuelos Zoraida, Caridad y Bernardo su comprensión, ánimos y consejos; aunque dos de ellos no me vean terminar la carrera, sé que estarían muy felices de ver lo que he conseguido.

Por último, agradecer a mi mayor apoyo, mi madre. Gracias por todos tus sacrificios, por dejar toda tu vida atrás y emigrar para que tuviera un futuro mejor. Por enseñarme a ser perseverante y a afrontar la vida. Sin ti me habría rendido hace mucho, este título también es tuyo.

Muchas gracias a todos.